

RECEIVED  
FEB 26 2003  
TECH CENTER 180012900



별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

This is to certify that the following application annexed hereto  
is a true copy from the records of the Korean Intellectual  
Property Office.

출원 번호 : 특허출원 2000년 제 83853 호  
Application Number PATENT-2000-0083853

출원 년 월 일 : 2000년 12월 28일  
Date of Application DEC 28, 2000

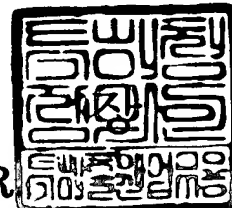
출원인 : (주)케이비피  
Applicant(s) KBP CO., LTD.



2002 년 08 월 27 일

특 허 청

COMMISSIONER



## 【서지사항】

**【서류명】** 명세서 등 보정서  
**【수신처】** 특허청장  
**【제출일자】** 2002.06.07  
**【제출인】**  
**【명칭】** (주)케이비피  
**【출원인코드】** 1-2000-042939-1  
**【사건과의 관계】** 출원인  
**【대리인】**  
**【성명】** 주성민  
**【대리인코드】** 9-1998-000517-7  
**【대리인】**  
**【성명】** 장수길  
**【대리인코드】** 9-1998-000482-8  
**【사건의 표시】**  
**【출원번호】** 10-2000-0083853  
**【출원일자】** 2000.12.28  
**【심사청구일자】** 2000.12.28  
**【발명의 명칭】** 저분자 폴리만유로네이트의 제조방법, 혈청지질 개선제로서의 이의 신규 용도 및 이를 함유하는 기능성 식품 및 건강 보조 식품  
**【제출원인】**  
**【발송번호】** 9-5-2002-0134288-93  
**【발송일자】** 2002.04.19  
**【보정할 서류】** 명세서등  
**【보정할 사항】**  
**【보정대상항목】** 별지와 같음  
**【보정방법】** 별지와 같음  
**【보정내용】** 별지와 같음  
**【추가청구항수】** 7  
**【취지】** 특허법시행규칙 제13조·실용신안법시행규칙 제8조의 규정에 의하여 위와 같 이 제출합니다. 대리인  
주성민 (인) 대리인  
장수길 (인)

**【수수료】****【보정료】** 0 원**【추가심사청구료】** 224,000 원**【기타 수수료】** 0 원**【합계】** 224,000 원**【감면사유】** 소기업 (70%감면)**【감면후 수수료】** 67,200 원**【첨부서류】** 1. 보정내용을 증명하는 서류[보정서]\_1통

【보정대상항목】 청구항 10

【보정방법】 추가

【보정내용】

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 저분자 폴리만뉴로네이트의 분자량이 1,000 내지 100,000 달톤인 방법.

【보정대상항목】 청구항 11

【보정방법】 추가

【보정내용】

제10항에 있어서, 저분자 폴리만뉴로네이트의 분자량이 10,000 내지 100,000 달톤인 방법.

【보정대상항목】 청구항 12

【보정방법】 추가

【보정내용】

제5항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 저분자 폴리만뉴로네이트의 분자량이 1,000 내지 100,000 달톤인 방법.

【보정대상항목】 청구항 13

【보정방법】 추가

【보정내용】

제12항에 있어서, 저분자 폴리만뉴로네이트의 분자량이 10,000 내지 100,000 달톤인 방법.

【보정대상항목】 청구항 14

【보정방법】 추가

【보정내용】

분자량이 1,000 내지 100,000 달톤인 순수 분리된 저분자 폴리만뉴로네이트.

【보정대상항목】 청구항 15

【보정방법】 추가

【보정내용】

제14항에 있어서 분자량이 10,000 내지 100,000 달톤인 순수분리된 저분자 폴리만뉴로네이트.

【보정대상항목】 청구항 16

【보정방법】 추가

【보정내용】

제14항 또는 제15항에 있어서, 순도가 90% 이상인 순수분리된 저분자 폴리만뉴로네이트.

## 【서지사항】

【서류명】	서지사항 보정서
【수신처】	특허청장
【제출일자】	2001.02.14
【제출인】	
【명칭】	( 주) 케이 비 피
【출원인코드】	1-2000-042939-1
【사건과의 관계】	출원인
【대리인】	
【성명】	주성민
【대리인코드】	9-1998-000517-7
【대리인】	
【성명】	장수길
【대리인코드】	9-1998-000482-8
【사건의 표시】	
【출원번호】	10-2000-0083853
【출원일자】	2000. 12. 28
【발명의 명칭】	저분자 폴리만유로네이트의 제조방법, 혈청지질 개선제 로서의 이의 신규 용도 및 이를 함유하는 기능성 식품 및 건강 보조 식품
【제출원인】	
【발송번호】	1-5-2001-0009819-40
【발송일자】	2001.02.08
【보정할 서류】	특허출원서
【보정할 사항】	
【보정대상항목】	첨부서류
【보정방법】	제출
【보정내용】	
【첨부서류】	1. 기타첨부서류_1통[수수료 감면대상을 증명하는 서 류]
【취지】	특허법시행규칙 제13조의 규정에 의하여 위와 같이 제출합 니다. 대리인 주성민 (인) 대리인 장수길 (인)

1020000083853

출력 일자: 2002/8/28

【수수료】

【보정료】 0 원

【기타 수수료】 0 원

【합계】 0 원

【첨부서류】 1. 기타첨부서류\_1통[수수료 감면대상을 증명하는 서류]

## 【서지사항】

**【서류명】** 특허출원서  
**【권리구분】** 특허  
**【수신처】** 특허청장  
**【참조번호】** 4580  
**【제출일자】** 2000. 12. 28  
**【국제특허분류】** A23L  
**【발명의 명칭】** 저분자 폴리만유로네이트의 제조방법, 혈청지질 개선제로서의 이의 신규 용도 및 이를 함유하는 기능성 식품 및 건강 보조 식품

**【발명의 영문명칭】** Process for preparing low molecular polymannuronate, a novel use thereof as controller of serum lipids, and functional foods and health-aid foods comprising the same

## 【출원인】

**【명칭】** ( 주 ) 케이 비 피  
**【출원인코드】** 1-2000-042939-1

## 【대리인】

**【성명】** 주성민  
**【대리인코드】** 9-1998-000517-7

## 【대리인】

**【성명】** 장수길  
**【대리인코드】** 9-1998-000482-8

## 【발명자】

**【성명의 국문표기】** 변재형  
**【성명의 영문표기】** BYON, Jae-Hyong  
**【주민등록번호】** 360109-1091016  
**【우편번호】** 612-062

**【주소】** 부산광역시 해운대구 반여 2동 1291-1460 현대반여 3차 아파트 101-50 2호

**【국적】** KR

## 【발명자】

**【성명의 국문표기】** 이진우  
**【성명의 영문표기】** LEE, Jin-Woo  
**【주민등록번호】** 590227-1046428



【우편번호】	604-827
【주소】	부산광역시 사하구 다대 1동 1552번지 대우아파트 103동 503호
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	이동수
【성명의 영문표기】	LEE, Dong-Soo
【주민등록번호】	660126-1106333
【우편번호】	429-786
【주소】	경기도 시흥시 정왕동 1868번지 주공아파트 201동 105호
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	남택정
【성명의 영문표기】	NAM, Taek-Jeong
【주민등록번호】	540420-1110720
【우편번호】	608-820
【주소】	부산광역시 남구 문현1동 53-3 (17/1)
【국적】	KR
【우선권주장】	
【출원국명】	KR
【출원종류】	특허
【출원번호】	10-2000-0005294
【출원일자】	2000.02.03
【증명서류】	첨부
【심사청구】	청구
【취지】	특허법 제42조의 규정에 의한 출원, 특허법 제60조의 규정에 의한 출원심사를 청구합니다. 대리인 주성민 (인) 대리인 장수길 (인)
【수수료】	
【기본출원료】	20 면 29,000 원
【가산출원료】	9 면 9,000 원
【우선권주장료】	1 건 26,000 원
【심사청구료】	9 항 397,000 원

1020000083853

출력 일자: 2002/8/28

【합계】	461,000 원
【감면사유】	소기업 (70%감면)
【감면후 수수료】	156,500 원
【첨부서류】	1. 요약서·명세서(도면)_1통 2. 위임장_1통 3. 소기업임을 증명하는 서류_1통

**【요약서】****【요약】**

본 발명은 알긴산의 유기산 부분가수분해 및 pH의 변화에 따른 용해도차법에 의한 평균분자량  $10^3 \sim 10^5$  달톤의 저분자 폴리만유로네이트의 제조방법을 제공하는 것이다.

본 발명의 저분자 폴리만유로네이트는 신체의 비만억제작용, 및 콜레스테롤, 중성지질, 인지질 및 저밀도지단백의 함량을 감소시키는 효과, 유익한 고밀도지단백의 함량을 증가시키는 효과, 혈청내의 GOT와 GPT 활성을 감소시키는 효과를 갖는다. 따라서, 본 발명의 저분자 폴리만유로네이트를 이용하여 다이어트 식품 또는 혈청지질개선을 위한 건강 보조 식품을 제조할 수 있다.

**【색인어】**

알긴산, 혈청지질, 건강보조식품, 저분자 폴리만유로네이트, 콜레스테롤

**【명세서】****【발명의 명칭】**

저분자 폴리만유로네이트의 제조방법, 혈청지질 개선제로서의 이의 신규 용도 및 이를 함유하는 기능성 식품 및 건강 보조 식품{Process for preparing low molecular polymannuronate, a novel use thereof as controller of serum lipids, and functional foods and health-aid foods comprising the same}

**【발명의 상세한 설명】****【발명의 목적】****【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】**

- <1> 본 발명은 고순도의 저분자 폴리만유로네이트의 제조방법 및 혈청지질 개선제로서의 이의 신규 용도에 관한 것이다. 또한 본 발명은 이러한 저분자 폴리만유로네이트를 함유하는 기능성 식품 및 건강 보조 식품에 관한 것이다.
- <2> 구체적으로 본 발명은 고분자 알긴산으로부터 유기산 분해 및 pH에 따른 용해도차 분리법에 의해 저분자 폴리만유로네이트만을 순수분리하는 방법 및 이러한 저분자 폴리만유로네이트를 함유하는 기능성 식품 및 혈청지질개선 건강보조식품에 관한 것이다.
- <3> 최근 고지방 및 고단백질 식이 등 식습관의 서구화에 따른 영양소의 과잉 섭취와, 운동량 부족 등의 원인으로, 고혈압, 동맥경화, 협심증, 심근경색 및 혈전증과 같은 난치성 심혈관계 질환, 비만 및 당뇨병이 증가하는 추세이고, 이들 질환의 예방 및 치료에 대한 관심이 급증하고 있다. 특히 화학 합성된 의약이 아니라, 천연물질에서 추출된

물질이 첨가된 식품으로 상기 질환을 예방 및 치료할 수 있다면, 부작용이나 거부감을 줄일 수 있는 가장 바람직하고 안전한 방법일 것이다.

<4> 이에 따라 최근 건강한 식생활을 위한 생리활성 식품소재 개발의 일환으로 식이섬유에 대한 연구개발이 다각도로 이루어지고 있다. 식이섬유는 변비예방, 비만방지, 항혈전, 항동맥경화, 항콜레스테롤 등 성인병에 대해 효과가 있는 것으로 알려져 있다[미국임상영양학회지 48, 1988, 748~753; 미국임상영양학회지 52, 1990, 495~499; 미국임상영양학회지 124, 1994, 78~83).

<5> 특히, 식이섬유중 해조류(미역, 다시마, 모자반, 톳 등)의 세포벽 구성 다당류 성분 중 20 내지 30%를 차지하는 식이섬유 성분인 고분자 알긴산이 콜레스테롤 저하 및 비만 억제 효과가 있음이 알려져 있다[일본영양학잡지 26권 3호, 1974, 78~83; 일본영양학잡지 33권 6호, 1974, 273-281; 일본수산학회지 59권 5호, 1993, 879~884].

<6> 현재 알긴산 관련제품들이 많이 제조, 판매되고 있는데, 이들 대부분은 해조류에서 알긴산을 단순 가공추출하여 판매하고 있는 실정이며, 이들 제품에 함유된 알긴산은 분자량이 큰 고분자(약 400만 달톤 이상)인 것들이 대부분이다. 고분자 알긴산은 만뉴로네이트(M) 및 글루로네이트(G)로 구성된 중합체인데, 고분자 상태로는 점성이 높고 용해도가 낮아서 음료 등 식품에 고농도로 첨가하여 사용하기가 용이하지 않았다. 따라서 일본 공개특허공보 평6-7093호에는 저분자화한 알긴산을 이용하여 기능성 음료 등에 첨가제로서 활용하는 것을 개시하고 있다. 여기서 저분자화 알긴산이란 분자량 10,000 내지 900,000 달톤의 폴리글루로네이트 및 폴리만유로네이트가 혼재해 있는 상태를 의미한다. 저분자화 알긴산은 고분자화 알긴산에 비해 점성이 감소하고 용해도가 증가하며, 콜레스테롤 저하 등 고분자 알긴산이 갖는 효과는 증가하는 것으로 알려져 있다.

<7> 고분자 알긴산을 저분자화하기 위하여 종래에 사용하던 방법으로는, 산, 알칼리를 이용하는 방법[Haug, A., Larsen, B. and Smidsrod, O. 1966. Acta Chem. Scand., 20(1), 183~190; Hirst, E. and Rees, D. A. 1965. J. Chem. Soc., 9, 1182~1187; Hirst, E. L., Percival, E. and Wold, J. K. 1964. J. Chem. Soc., 8, 1493~1499], 열 및 압력을 이용하는 방법[일본특허 特開平6-7093, 1994; Kimura, Y., Watanabe, K. and Okuda, H. 1996. J. Ethnopharmacology. 54, 47~54], 및 효소를 이용하는 방법[Doubet, R. S. and Quatrano, R. S. 1984. Appl. Environ. Microbiol. 47(4): 699-703; Dunne, W. M. and Buckmire, F. L. A. 1985. Appl. Environ. Microbiol. 50(1): 562-567; Hansen, J. B. and Nakamura, L. K. 1985. Appl. Environ. Microbiol., 49(4), 1019-1021; Haug, A. and Larsen, B. 1971. Carbohydr. Res., 17, 297-308; Romeo, T. and Preston, J. F. 1986. Biochemistry. 25(26): 8385-8391; Yonemoto, Y., Murata, K., Kimura, A., Yamaguchi, H. and Okayama, K. 1991. J. of Fermen. and Bioengin. 72(3): 152-157]이 있다. 그러나, 산, 알칼리를 이용하는 방법은 제품의 품질저하와 기기의 부식문제, 중화제의 필요성과 그 후처리의 문제가 있어 산업적으로 이용하기에 불리한 방법이다. 가압하에 100~200℃에서 열처리하여 분자량 10,000~900,000 달톤 수준의 저분자화한 알긴산을 제조하는 방법(일본특허 特開平6-7093, 1994)은 분해시간이 길며, 가압 하에 100℃ 이상의 고온에서 처리하므로 고온·고압을 위한 에너지가 소요되어 고비용이 요구되는 결점이 있다. 마지막으로 효소를 이용하는 방법도 장시간의 반응시간을 필요로 하므로 산업적으로 이용하기에는 적합하지 않다.

<8>       상기한 바와 같이, 저분자화 알긴산은 고분자 알긴산에 비해 콜레스테롤 저하 등의 효과는 증가하면서 용해도 등의 물성도 개선되어 저분자화 알긴산을 이용한 건강보조식품의 제조에 유용할 것으로 기대된다.

<9>       그러나, 저분자화 알긴산으로부터 콜레스테롤 저하 등의 효과에 직접적인 영향을 미치는 유효성분만을 추출하여 이를 식품에 직접 사용할 수 있다면, 더욱 고단위의 유효성분을 정확한 함량으로 함유하는 기능성 식품을 제조할 수 있을 것이므로, 그 산업적 기대 및 효과는 엄청날 것이다.

<10>       즉, 이전에는 고분자 알긴산으로부터 그 유효성분인 저분자 폴리만뉴로네이트만을 고순도로 분리 제조하는 방법이 존재하지 않았고, 저분자 폴리만뉴로네이트 자체가 혈청지질개선제로서 유용한 물질임이 알려져 있지 않았다.

<11>       한편, 폴리만뉴로네이트 자체는 투석환자로부터 독소를 걸러내는 방법에서 요독성 물질을 조절하는 물질로서[쿨베 등(Kulbe et al)의 미합중국특허 제4,689,322호], 및 장기이식에서의 면역 거부반응을 회피하기 위하여 세포나 조직등에 코팅하는 물질로서[도리안 등(Dorian et al.)의 미합중국특허 제5,656,468호]의 용도가 알려져 있을 뿐이다.

**【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】**

<12>       본 발명의 일차적인 목적은 고순도의 저분자 폴리만뉴로네이트의 제조방법을 제공하는 것이다.

<13>       본 발명의 다른 목적은 혈청지질 개선제로서의 저분자 폴리만뉴로네이트의 용도를 제공하는 것이다.

- <14> 본 발명의 또다른 목적은 고순도 저분자 폴리만뉴로네이트를 함유하는 기능성식품 및 건강보조식품을 제공하는 것이다.
- <15> 즉, 본 발명은 혈액 및 간장 중의 지방과 콜레스테롤 및 글루코스 수치의 저하에 의하여 고혈압, 동맥경화, 고콜레스테롤증 등의 심혈관계 질환, 비만 및 당뇨병을 치료 및 예방하는 효과를 갖는 기능성 식품 및 건강보조식품의 소재로서 유용한 물질 및 그 물질의 제조방법을 제공함으로써 인류 건강 증진 및 질병예방에 기여하고자 하는 것이다

#### 【발명의 구성 및 작용】

- <16> 본 발명의 저분자 폴리만뉴로네이트의 제조방법은
- <17> (1) 고분자 알긴산에 유기산을 첨가하고 가열하는 단계,
- <18> (2) pH를 2.5 내지 3.5로 조절하는 단계, 및
- <19> (3) 폴리만유로네이트를 회수하는 단계
- <20> 를 포함한다.
- <21> 상기 본 발명의 방법에 의하면, 고분자 알긴산을 유기산으로 부분가수분해를 유도하여 보다 분자량이 작은 저분자화 알긴산으로 만들고, 이어서 폴리만유로네이트와 폴리글루로네이트의 혼성 블록으로 이루어진 저분자화 알긴산에서 pH 조절에 의한 용해도차법을 이용하여 폴리만유로네이트 블록만을 분리·제조할 수 있다.
- <22> 본 발명에 사용될 수 있는 출발물질인 고분자 알긴산은 자연에서 존재하는 갈조류 시료 또는 이의 건조분말시료로부터 당업계에 공지된 적절한 추출, 중화 및 탈수, 감압 건조 과정 등을 거쳐 얻을 수 있다.



<23> 본 발명에서 사용될 수 있는 유기산으로는 구연산, 사과산, 수산, 젖산, 호박산, 주석산, 초산 등이 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 알긴산을 가수분해하여 저분자화할 수 있는 유기산이라면 모두 본 발명에 사용될 수 있다. 유기산의 종류에 따라 알긴산의 저분자화 정도에 차이가 있을 수 있으나, 유기산의 농도나 가수분해 시간 등을 조절하여 저분자화 정도를 조절할 수 있다. 본 발명의 일 실시예에 의하면, 동일한 농도에서는 초산의 저분자화 정도가 가장 높은 것으로 나타났다. 본 발명의 한 실시태양에서 바람직한 유기산의 농도는 0.2몰 내지 2몰, 특히 0.2 몰 내지 1몰의 범위내일 것이 바람직하다.

<24> 고분자 알긴산과 유기산과의 반응은 일반적으로 80~120℃의 온도범위가 바람직하나, 특히 95 내지 105℃가 가장 적합하다.

<25> 제2단계에서 pH는 2.5 내지 3.5 로 조절하는 것이 바람직하다. 특히 2.8 내지 3.0으로 조절하는 것이 더욱 바람직하다. pH를 2.5 미만으로 하면, 얻어지는 폴리만뉴로네이트의 순도는 높아지지만, 수율이 낮아지고, pH를 3.5 초과하면, 순도가 낮아지므로, 순도와 수율을 가장 적절하게 조화시키는 범위가 바람직하기 때문이다. 폴리만유로네이트의 순도를 95%이상으로 얻기 위해서는 pH를 1.5이하까지 떨어뜨려야 하나 이 때 수율이 10~20%밖에 되지 않아 실제 산업적인 이용을 위해서는 부적절하며, pH를 3.5~4.0 사이에서 조절하면 폴리만유로네이트의 순도가 훨씬 떨어지는 결과를 나타내었다.

<26> 본 발명에 따라 얻어지는 저분자 폴리만뉴로네이트의 순도는 90% 이상으로 고순도이다. 본 명세서에서 저분자 폴리만뉴로네이트라 함은 평균 분자량 1,000 내지 100,000 달톤을 의미한다. 본 발명의 폴리만뉴로네이트는 바람직하게는 30,000 내지 50,000 달

톤의 분자량을 갖는 것이고, 더욱 바람직하게는 35,000 내지 45,000 달톤의 분자량을 갖는 것이다.

<27> 본 발명자들은 상기와 같이 얻어진 저분자 폴리만유로네이트가 고분자 알긴산, 저분자화 알긴산 및 저분자 폴리글루로네이트 보다 더 우수한 혈청지질개선 기능이 있음을 발견하였다. 여기서, "혈청지질개선" 기능이란, 혈액 및 간장 중의 총 콜레스테롤 수치를 낮추고, 유익한 고밀도지단백의 수치를 증가시키면서 저밀도지단백의 수치는 낮추고, 인지질 및 중성지질의 함량을 인체에 유익하게 조절하는 기능 및 지오티(GOT) 및 지피티(GPT) 수치를 저하시키는 기능을 포함하는 의미인 것으로 정의된다.

<28> 지오티 및 지피티란 각각 글루타믹옥살로트랜스아미네이즈 및 글루타믹피루빅트랜스아미네이즈 효소의 활성을 측정한 수치로, 이들 효소의 활성은 모든 형태의 간손상에 서도 증가하며 매우 민감하다. 따라서, 지오티 및 지피티 수치의 저하능력은 간기능 향상을 보여주는 척도이다.

<29> 동물실험 결과, 저분자 폴리만유로네이트의 혈청지질개선효과가 저분자화 알긴산 및 저분자화 폴리글루로네이트에 비하여 비약적으로 증진되고 연속복용에서도 간기능 손상이 없음이 확인되었다(하기 실시예 3의 동물실험결과 참고). 본 발명의 저분자 폴리만유로네이트는 총 콜레스테롤 함량을 단순히 낮추는 것 뿐만 아니라 콜레스테롤 조성비를 유리하게 조절하는 효과가 있고, 혈청 지오티 및 지피티에 대한 상승억제 효과가 뛰어나 간기능 향상에도 크게 기여할 것으로 예상된다.

<30> 또한, 본 발명자들은 폴리만유로네이트가 카드뮴, 납, 수은과 같은 유해 중금속과의 결합능이 우수하여 이들 중금속을 체외로 배출하는 능력을 가짐을 발견하였다. 폴리

만유로네이트의 유해 중금속 이온과의 결합능은 고분자 알긴산에 비하여 월등히 증가된 것으로 밝혀졌다.

<31> 또한, 기본적으로 폴리만뉴로네이트는 물과의 결합력과 보수성이 높아서 변비에도 탁월한 효과를 나타내는 것으로 예상된다.

<32> 상기한 바와 같이, 본 발명에서 얻어진 저분자 폴리만뉴로네이트는 고순도이면서 혈청지질개선효과가 탁월할 뿐만 아니라, 물에 대한 용해도 및 점성이 우수하고, 천연의 갈조류 특유의 이미 또는 이취를 갖지 않으므로, 다양한 식품에의 첨가제로서 및 단독으로 혈청지질개선 및 비만, 당뇨병의 예방 및 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

<33> 또한, 본 발명에서 얻어진 폴리만뉴로네이트는 요독성 물질의 조절 물질 및 장기기 식에서 면역거부반응을 피하기 위하여 세포나 조직에 코팅하는 물질로서의 용도로도 사용될 수 있다.

<34> 본 발명의 저분자 폴리만뉴로네이트는 다양한 기능성 식품 및 건강보조식품의 제조 시 식품의 주성분 또는 첨가제 및 보조제로 사용될 수 있다.

<35> 본 명세서에서 "기능성 식품"이란, 일반 식품에 폴리만유로네이트를 첨가함으로써 일반 식품의 기능성을 향상시킨 식품을 의미한다. 기능성에는 물성 및 생리기능성으로 대별될 수 있는데, 본 발명의 폴리만유로네이트는 물성으로는 고유의 점성 및 중금속 이온과의 결합능을 가지고 있고, 생리기능성으로는 콜레스테롤 저하능 등의 고지혈증 예방 기능 및 간기능 개선과 관련하여 지오티 및 지피티 활성의 저하능을 가지는 것으로 나타났다. 따라서, 본 발명의 폴리만유로네이트를 일반 식품에 첨가할 경우 일반 식품의 물성 및 생리기능성이 향상될 것이고, 본 발명은 이러한 향상된 기능의 식품을 포괄적으로

로 "기능성 식품"이라 정의한다. 예를 들어 본 발명의 폴리만유로네이트를 햄 등의 2차 가공식품에 첨가하여 이 식품의 점도를 증가시키고, 고지혈증 예방 및 비만 예방 등의 기능을 향상시킨 경우, 이러한 2차 가공식품을 기능성 식품이라 부른다.

<36>        기능성 식품과 구별하여, 본 명세서에서 "건강보조식품" 또는 "특수영양식품"이란, 폴리만유로네이트를 일반식품에 첨가하거나 또는 폴리만유로네이트만을 캡슐화하는 등으로 제조한 건강식품으로, 이를 섭취할 경우 건강상 특정한 효과를 가져오는 것을 의미하는 것으로 해석된다. 즉, 건강보조식품은 특정의 약리기능을 가지는 것을 의미하나, 일반 약품과는 달리 식품을 원료로 하여 약품의 장기복용시 발생할 수 있는 부작용등이 없는 장점이 있다.

<37>        예를 들어, 폴리만유로네이트의 식이효율(즉, 체중증가 억제효과)의 기능을 이용하여 다이어트 기능성 식품을 제조할 수 있다. 또한 간기능향상 기능을 이용한 기능성 강화 식품, 숙취제거 간기능보호 음료 등을 제조할 수 있을 것이다.

<38>        또한, 본 발명의 폴리만유로네이트는 고지혈증 환자를 위한 식이 요법 또는 고지혈증 방지를 위한 콜레스테롤 수치 저하 및 조절 효과를 갖는 건강보조식품의 제조에도 응용가능하다.

<39>        기타 변비예방을 위한 식이섬유 음료, 콜레스테롤 수치 저하 기능성 식빵, 라면, 마가린 제조 등의 다양한 분야에 응용가능하다.

<40>        본 발명에 따른 저분자 폴리만유로네이트를 함유하는 기능성 식품 및 건강보조식품에는 저분자 폴리만유로네이트를 0.01 내지 100 중량% 함유하는 것이 바람직하다. 특히 바람직한 함량은 첨가되는 식품군에 따라 차이가 있으나 일반적으로 음료로 조제할 경

우에는 0.01~5%내외, 면류 등에 첨가될 경우에는 10~50%내외, 건강보조식품으로 조절할 경우에는 40~100%내외로 적용하고자 하는 식품군에 따라 다양하게 첨가하여 이용할 수 있다.

<41> 본 발명에 따른 저분자 폴리만뉴로네이트 건조 분말을 일반 소맥분에 1 내지 50 중량%로 포함되도록 혼가하여 폴리만뉴로네이트 혼합 소맥분을 조성하고, 이 소맥분을 이용하여 통상의 라면 및 식빵의 제조방법으로 기능성 저분자 폴리만뉴로네이트 함유 라면 및 식빵을 제조할 수 있다.

<42> 본 발명의 저분자 폴리만뉴로네이트를 주성분으로 함유하고 통상의 첨가제를 임의로 함유하는 캡슐제 및 정제 형태의 다이어트 식품을 통상의 제조공정으로 제조할 수 있다.

<43> 이 외에도 저분자 폴리만유로네이트의 용도는 식품산업에 있어 음료에 첨가하여 기능성 음료로도 이용이 가능하고, 식품에도 햄류 등 지방 또는 콜레스테롤이 많은 식품에 일정량 첨가하여 제조가공할 수 있으며, 면류에도 첨가하여 적용할 수 있고, 그외 갈비의 양념 및 소금 등에 혼합하는 양념류로도 이용이 가능하는 등 그 필요에 따라 다양하게 분말상으로 이용하던지 아니면 물에 녹여 이용할 수 있다.

<44> 이하 본 발명의 실시예를 참조하면서 본 발명의 구성 및 효과를 더욱 상세히 설명할 것이나 본 발명은 하기 실시예에 의하여 제한되지 않음이 명백하다.

<45> [실시예 1]

<46> 1. 저분자 폴리만유로네이트의 제조

<47> 약 60그램의 알긴산(분자량 약 130만 달톤)을 하기 표1 내지 표6에 제시한 농도의 유기산 용액 600ml에 혼합하여 교반한 후 약 100℃에서 하기 표에 제시한 시간(유기산의 농도는 시간과는 함수관계이므로 유기산의 농도가 진할수록 시간은 짧게 소요됨)동안 가수분해시켜 저분자화하였다. 이 저분자화한 알긴산의 폴리만유로네이트와 폴리글루로네이트 혼합블록을 각각의 유기산으로 pH 2.8~3.0으로 조정하고 원심분리하여 상층액과 침전으로 분리하였다. 이 때 상층액이 폴리만유로네이트 분획이고 침전이 폴리글루로네이트 분획이므로, 상층액을 취하여 이 상층액에 1몰 탄산나트륨을 첨가하여 중화시키고, 에탄올을 50%가 되게 첨가하여 침전을 생성시킨 후 원심분리하여 침전을 얻었다.

<48> 얻어진 침전을 최소량(약 200 ml)의 증류수에 용해하고, 여기에 다시 각 유기산으로 pH 2.8~3.0으로 조정하고 원심분리하였다. 상층을 1몰 탄산나트륨으로 중화한 후에 같은 양의 에탄올로 재침전시키고 원심분리하여 저분자 폴리만유로네이트를 분리하였다

## <49> 2. 저분자 폴리만유로네이트의 분자량 측정

<50> 본 발명의 저분자 폴리만유로네이트의 분자량은 세파로즈 시엘-4비 (Sephacrose CL-4B)와 세파로즈 시엘-6비(Sephacrose CL-6B), 칼럼크로마토그래피 (Ø12 mm ×97.6 cm)를 사용하며, 풀루란(Pullulan, Shodex standard P-82)을 분자량 표준으로 하여 측정하였다. 본 발명에서 제조된 폴리만유로네이트의 분자량은 46.1 킬로달톤이었다.

## <51> 3. 저분자 폴리만유로네이트의 순도검정

<52> 분리한 저분자 폴리만유로네이트의 순도검정 및 조성분석은 저분자 폴리만유로네이트를 1% 트리에칠아민용액에 용해한 후에 5% 메탄올을 함유한 0.02몰 인산칼륨 완충액

(pH 4.6)으로 왓트만 파티실 10-에스에이엑스(Whatman Partisil 10-SAX) 음이온교환칼럼 (250 × 4.6 mm i.d.)을 사용하여 고속액체크로마토그래피로서 분석하였다. 순도검정에는 글루유론산 락톤과 만유론산 락톤(시그마사제)을 표준품으로 하여 시료분석과 같은 조건으로 고속액체크로마토그래피에 의하여 분석한 크로마토그램을 기준으로 하여 각각의 용리패턴을 비교하여 순도를 판정하였다. 본 발명에서 제조된 폴리만뉴로네이트의 순도는 가수분해시간별로 각각 1시간-91%, 3시간-93%, 5시간-96% 이었다.

<53> [실시예 2] 다양한 유기산에 의한 다양한 분해조건에서 고분자 알긴산의 분해 실험 결과

<54> 다양한 종류의 유기산을 이용하여 동일한 시간동안 가수분해한 결과를 표 1에 나타내었다. 유기산의 종류에 따라 저분자화 정도에 차이를 보였으며 동일 농도에서는 초산으로 가수분해한 것이 가장 저분자화 정도가 높았다. 각각의 수율은 약 80%전후로 거의 유사한 경향을 보였다.

<55> 【표 1】

사용한 유기산과 생성된 폴리만뉴로네이트 분자량의 상관관계

유기산 (0.4 몰)	반응시간 (시간)	분자량 (킬로달톤)
구연산	3	24.0
사과산	3	53.2
수산	3	37.6
젖산	3	33.8
호박산	3	35.4
주석산	3	33.1
초산	3	7.5

<56> \* 반응은 100℃의 항온조건에서 실행.

<57> 다양한 농도(0.2~1.0몰)의 초산을 이용하여 동일한 시간동안 가수분해한 결과를 표 2에 나타내었다. 알긴산의 저분자화 정도는 유기산의 농도가 진할수록 높게 나타났다. 그러나, 저농도의 초산을 이용한 경우에도 생성된 폴리만뉴로네이트의 분자량은 40,000 달톤 정도로 원래 알긴산 분자량의 1/30 수준으로 그 저분자화 효과가 큰 것으로 나타났다.

<58> 【표 2】

초산농도와 생성된 폴리만뉴로네이트 분자량과의 상관관계

초산농도 (몰)	반응시간 (시간)	분자량 (킬로달톤)
0	0	1,283.0
0.2	3	40.0
0.4	3	7.5
0.6	3	3.8
0.8	3	1.9
1.0	3	0.6

<59> \* 반응은 100℃의 항온조건에서 실행.

<60> 동일한 농도의 유기산을 이용하고 다만 가수분해 시간만을 달리하였을 때의 저분자화 정도를 각각 초산, 사과산, 수산 및 구연산을 대상으로 측정하여 표 3~6에 나타내었다. 가수분해는 10~240분의 시간대에서 반응시간이 증가함에 따라 저분자화도 높게 나타났다. 특히 초기반응시간(10~60분) 동안에 저분자화가 급격하게 일어남을 알 수 있었다.



## &lt;61&gt; 【표 3】

초산에서 반응시간과 생성된 폴리만뉴로네이트 분자량과의 상관관계

초산농도 (몰)	반응시간 (분)	분자량 (킬로달톤)
0.4	0	1,283.0
	10	462.1
	20	185.6
	40	109.0
	55	43.2
	60	32.8
	120	23.7
	180	7.5
	240	4.4

&lt;62&gt; \* 반응은 100℃의 항온조건에서 실행.

## &lt;63&gt; 【표 4】

사과산에서 반응시간과 생성된 폴리만뉴로네이트 분자량과의 상관관계

사과산농도 (몰)	반응시간 (분)	분자량 (킬로달톤)
0.4	0	1,283.0
	20	569.0
	40	446.1
	60	234.2
	120	123.9
	180	53.2
	240	24.0

&lt;64&gt; \* 반응은 100℃의 항온조건에서 실행.

## &lt;65&gt; 【표 5】

수산에서 반응시간과 생성된 폴리만뉴로네이트 분자량과의 상관관계

수산농도 (몰)	반응시간 (분)	분자량 (킬로달톤)
0.4	0	1,283.0
	20	465.4
	40	354.8
	60	162.8
	120	82.5
	180	37.6
	240	15.4

&lt;66&gt; \* 반응은 100℃의 항온조건에서 실행.

## &lt;67&gt; 【표 6】

구연산에서 반응시간과 생성된 폴리만뉴로네이트 분자량과의 상관관계

구연산농도 (몰)	반응시간 (분)	분자량 (킬로달톤)
0.4	0	1,283.0
	20	452.4
	40	332.8
	60	154.0
	120	78.5
	180	24.0
	240	13.2

&lt;68&gt; \* 반응은 100℃의 항온조건에서 실행.

## &lt;69&gt; [실시예 3] 저분자 폴리만뉴로네이트의 효과 실험 [동물실험]

## &lt;70&gt; 1. 실험재료 및 방법

<71> (1) 실험식이의 조제: 기초식이, 콜레스테롤식이 및 실험식이의 조성은 표 1과 같다. 콜레스테롤식이는 기초식이에 콜레스테롤 1%를 첨가한 양만큼 자당(sucrose)의 양을 줄여 조제하고, 실험식이는 기초식이의 자당 양에서 콜레스테롤 1%와 저분자 폴리만유

로네이트 5%, 폴리글루로네이트 5% 및 폴리만유로네이트와 폴리글루로네이트 각각 2.5%  
씩에 해당하는 양만큼을 줄인 양으로 각각 조제하였다.

<72> 【표 7】

실험사료의 조성 (g/kg)

식이성분	실험동물군				
	기초식이군	대조군	폴리만유로 네이트군	폴리만유로네이 트+폴리글루로 네이트군	폴리글루로 네이트군
카제인	180	180	180	180	180
라드유	80	80	80	80	80
콘오일	20	20	20	20	20
미네랄	40	40	40	40	40
비타민	8.5	8.5	8.5	8.5	8.5
염화콜린	2	2	2	2	2
콜레스테롤	0	10	10	10	10
콜린산나트륨	0	2.5	2.5	2.5	2.5
폴리만유로네이트	0	0	50	25	0
폴리글루로네이트	0	0	0	25	50
설탕	669.5	657	607	607	607

<73> (2) 실험동물

<74> 본 실험에 사용한 실험동물은 스프래규 도우리종(Sprague Dawley, SD) 4주령 웅성  
랫트(대한실험동물연구소에서 구입)이다. 이를 상기 표7의 실험동물군 각 그룹당(총 5  
그룹) 10마리씩으로 하여 상기 조성의 실험사료로 5주간 사육하였다.

<75> 이때 실험동물의 사육조건은 온도가 22±2℃, 습도는 65±3% RH가 자동조절되는 동물  
사육실에서 5주간 사육한 다음, 채혈하여 혈청을 분리하여, 혈청과 간의 콜레스테롤, 중  
성지질, 인지질 및 저밀도지단백의 억제효과를 분석 검토하였다.

<76> 그리고, 콜레스테롤, 중성지질, 인지질 및 저밀도지단백의 함량은 키트시약[신양화  
학(주)제조]을, 그리고 실험동물의 사료는 식품등급을 사용하였다.

- <77> (3) 총콜레스테롤과 유리콜레스테롤: 혈청과 간장 추출시료 중의 총콜레스테롤과 유리콜레스테롤은 혈청과 추출시료 각 100  $\mu$ l를 취하여 총콜레스테롤 측정용 콜레스테롤 CII-테스트 키트시약(신양화학(주)제)과 유리콜레스테롤 측정용 유리콜레스테롤 C-테스트 키트시약(신양화학(주)제)을 써서 각각 측정하였다.
- <78> (4) 중성지질 및 인지질: 중성지질의 농도는 혈청과 간장 추출시료 각 100  $\mu$ l를 취하여 중성지질 G-테스트 키트시약 (신양화학(주)제)을 써서, 인지질의 농도는 혈청과 간장 추출시료 각 100  $\mu$ l를 취하여 인지질 C-테스트 키트시약(신양화학(주)제)을 써서 각각 측정하였다.
- <79> (5) 고밀도지단백- 및 저밀도지단백-콜레스테롤: 혈청과 간장 중의 고밀도지단백-콜레스테롤의 농도는 혈청과 간장 추출시료 각 100  $\mu$ l를 취하여 고밀도지단백-콜레스테롤 C-테스트 키트시약 (신양화학(주)제)을 써서 측정하였고, 저밀도지단백-콜레스테롤은 총콜레스테롤의 농도에서 고밀도지단백-콜레스테롤의 농도를 감한 값으로 나타내었다.
- <80> (6) 글루타믹 옥살로아세트 트랜스아미나아제 (GOT) 및 글루타믹 피루빅 트랜스아미나아제 (GPT) 활성 : 혈청 100  $\mu$ l를 취하여 GOT 및 GPT 활성측정용 키트시약 (신양화학(주)제)을 써서 측정하였다.
- <81> (7) 통계처리: 실험결과는 통계처리에 의하여 실험군별로 평균치와 표준오차를 계산하였고,  $p < 0.01$  수준에서 둔칸스 다중 테스트(Duncan's multiple test)로 각 실험군간의 유의성을 검정하였다.
- <82> 2. 저분자 폴리만유로네이트의 비만억제 효과

<83> 5%의 저분자 폴리만유로네이트를 동물의 식이에 혼합하여 5주간 섭이시켜 체중의 감소효과를 살펴보면 표 8에서 보는 바와 같이 본 발명의 저분자 폴리만유로네이트 첨가군이 대조군에 비해 체중의 증가를 효과적으로 억제함을 알 수 있었다.

<84> 【표 8】

사육실험기간 중의 식이효율

실험군	체중증가	사료섭취량	식이효율
기초식이군	197.2	429.1	0.46
대조군*1	212.6	433.8	0.49
폴리만유로네이트군*2	199.0	446.8	0.44
폴리만유로네이트+폴리글루로네이트군*3	201.6	453.4	0.44
폴리글루로네이트군*4	200.1	442.1	0.45

<85> \*1 기초식이 + 콜레스테롤 1% 식이군

<86> \*2 기초식이 + 콜레스테롤 1% + 폴리만유로네이트 5% 식이군

<87> \*3 기초식이 + 콜레스테롤 1% + 폴리만유로네이트 2.5% + 폴리글루로네이트 2.5% 식이군

<88> \*4 기초식이 + 폴리글루로네이트 5% 식이군

<89> 3. 저분자 폴리만유로네이트의 콜레스테롤 저하 효과

<90> 본 발명의 5% 저분자 폴리만유로네이트를 5주 동안 실험동물에 투여한 다음 혈청 및 간을 분리하여 성인병 발병의 원인물질로 알려진 콜레스테롤, 중성지질 및 저밀도 지단백 함량을 비교한 결과 표 9에서 보는 바와 같이 모든 실험사료 식이군의 혈청과 간장 지질 중의 콜레스테롤 함량은 콜레스테롤식이군보다 유의적으로 낮았으며, 특히 저분자 폴리만유로네이트 식이군의 저하효과가 현저하였으며, 폴리만유로네이트와 폴리글루로네

이트 혼합식이군의 효과가 폴리글루로네이트식이군에 비하여 우수하였다. 이 결과로부터 폴리만유로네이트의 식이는 폴리글루로네이트의 식이에 비하면 혈액 및 간장 중의 콜레스테롤 저감효과가 큰 것을 확인할 수 있었다. 본 발명제품인 저분자 폴리만유로네이트 식이에 의해 혈청콜레스테롤 함량은 대조군에 비하여 46%정도 감소하였으며, 간장 콜레스테롤 함량은 59%나 감소하였다.

<91> 【표 9】

혈청 및 간장 콜레스테롤 저하효과

실험군	혈청콜레스테롤 (mg/dl)	간장콜레스테롤 (mg/g)
기초식이군	35.1 $\pm$ 3.3	7.4 $\pm$ 0.2
대조군*1	284.2 $\pm$ 3.6	35.6 $\pm$ 0.3
폴리만유로네이트군*2	153.3 $\pm$ 2.7	14.7 $\pm$ 0.2
폴리만유로네이트+폴리글루로네이트군*3	207.5 $\pm$ 3.3	19.6 $\pm$ 0.2
폴리글루로네이트군*4	218.8 $\pm$ 3.4	22.1 $\pm$ 0.3

<92> \*1, \*2, \*3, \*4; [표 8] 참조

<93> 4. 저분자 폴리만유로네이트의 중성지질 및 인지질에 대한 효과

<94> 상기 3항의 실험과 동일한 실험의 결과 표 10과 표 11에서 나타낸 바와 같이, 혈청 중의 중성지질의 양은 콜레스테롤식이군에서 가장 높았고, 저분자 폴리만유로네이트식이군이 가장 낮았으며, 다른 실험사료 식이군은 기초식이군과 비슷한 함량을 보였다. 간장지질에서도 혈청과 마찬가지로 콜레스테롤식이군이 가장 높았으며 저분자 폴리만유로네이트식이군이 가장 낮았다. 인지질의 양은 혈청과 간장 모두에서 콜레스테롤식이군이 가장 높았고, 기초식이군이 가장 낮았다. 실험사료 식이군에서는 모두 콜레스테롤식이군에 비하여 인지질의 함량이 낮았으며, 그 효과는 저분자 폴리만유로네이트식

이군에서 가장 현저하였다. 본 발명제품인 저분자 폴리만유로네이트에 의하여 혈청에서의 중성지질과 인지질의 함량은 대조군에 비하여 각각 42%와 48% 감소하였다. 그리고 간장에서는 각각 35%와 40% 감소하였다.

<95> 【표 10】

혈청 및 간장 중성지질 저하효과

실험군	혈청중성지질 (mg/dl)	간장중성지질 (mg/g)
기초식이군	62.5 $\pm$ 3.4	42.3 $\pm$ 1.3
대조군*1	93.3 $\pm$ 4.2	79.2 $\pm$ 2.0
폴리만유로네이트군*2	54.3 $\pm$ 2.4	40.8 $\pm$ 1.7
폴리만유로네이트+폴리글루로네이트군*3	60.0 $\pm$ 2.7	49.2 $\pm$ 1.9
폴리글루로네이트군*4	72.1 $\pm$ 2.9	51.9 $\pm$ 1.9

<96> \*1, \*2, \*3, \*4; [표 8] 참조

<97> 【표 11】

혈청 및 간장 인지질 저하효과

실험군	혈청인지질 (mg/dl)	간장인지질 (mg/g)
기초식이군	48.9 $\pm$ 1.5	10.2 $\pm$ 0.8
대조군*1	98.8 $\pm$ 3.2	24.5 $\pm$ 1.5
폴리만유로네이트군*2	63.8 $\pm$ 2.6	14.8 $\pm$ 0.9
폴리만유로네이트+폴리글루로네이트군*3	68.5 $\pm$ 2.9	15.7 $\pm$ 0.7
폴리글루로네이트군*4	68.0 $\pm$ 3.0	18.6 $\pm$ 0.7

<98> \*1, \*2, \*3, \*4; [표 8] 참조

<99> 5. 저분자 폴리만유로네이트의 고밀도지단백- 및 저밀도지단백-콜레스테롤에 대한 효과

<100>      상기 3항의 실험과 동일한 실험의 결과, 표 12과 표 13에서 나타낸 바와 같이, 고밀도지단백-콜레스테롤의 함량은 혈청에서 콜레스테롤 식이군이 가장 낮았고, 저분자 폴리만유로네이트식이군이 가장 높았다. 그리고 그 외 실험사료군도 콜레스테롤 식이군에 비하여 월등히 많은 함량을 보였다. 간장지질에서는 기초식이군이 가장 낮았으며, 저분자 폴리만유로네이트 식이군이 가장 높은 함량을 보였다. 저밀도 지단백 콜레스테롤 함량은 혈청중에서 콜레스테롤 식이군이 가장 높은 함량을 나타내었고, 기초식이군이 가장 낮았다. 실험사료 식이군은 콜레스테롤 식이군에 비하여 현저하게 저하하는 효과를 보였고 이는 저분자 폴리만유로네이트 식이군에서 현저하였다. 간장지질에서도 실험사료 식이군에서 저밀도 지단백 콜레스테롤의 저감효과가 높게 나타났고, 결과는 혈청에서와 같은 경향이였다. 그리고, 효과는 저분자 폴리만유로네이트 식이군에서 가장 뛰어남을 알 수 있었다. 본 발명제품인 저분자 폴리만유로네이트에 의하여 혈청에서의 고밀도지단백의 함량은 대조군에 비하여 4.6배 증가하였고 저밀도지단백의 함량은 59% 감소하였다. 그리고 간장에서는 고밀도지단백이 1.2배 증가하였고 저밀도지단백은 74% 감소하였다.

<101>      【표 12】

혈청 및 간장 고밀도지단백 콜레스테롤 증가효과

실험군	혈청고밀도지단백 (mg/dl)	간장고밀도지단백 (mg/g)
기초식이군	27.8 $\pm$ 1.1	3.3 $\pm$ 0.1
대조군*1	8.6 $\pm$ 0.2	5.7 $\pm$ 0.3
폴리만유로네이트군*2	39.4 $\pm$ 0.9	6.8 $\pm$ 0.2
폴리만유로네이트+폴리글루로네이트군*3	23.5 $\pm$ 0.6	5.4 $\pm$ 0.4
폴리글루로네이트군*4	15.2 $\pm$ 0.7	4.9 $\pm$ 0.3

<102>      \*1, \*2, \*3, \*4; [표 8] 참조



## &lt;103&gt; 【표 13】

혈청 및 간장 저밀도지단백 콜레스테롤 저하효과

실험군	혈청저밀도지단백 (mg/dl)	간장저밀도지단백 (mg/g)
기초식이군	7.3 $\pm$ 0.3	4.1 $\pm$ 0.3
대조군*1	275.6 $\pm$ 3.4	29.9 $\pm$ 0.5
폴리만유로네이트군*2	113.9 $\pm$ 1.4	7.9 $\pm$ 0.2
폴리만유로네이트+폴리글루로네이트군*3	184.0 $\pm$ 2.4	14.2 $\pm$ 0.3
폴리글루로네이트군*4	203.6 $\pm$ 2.9	17.2 $\pm$ 0.3

&lt;104&gt; \*1, \*2, \*3, \*4; [표 8] 참조

## &lt;105&gt; 6. 저분자 폴리만유로네이트의 혈청 GOT와 GPT에 대한 효과

<106> 상기 3항의 실험과 동일한 실험의 결과, 표 14에서 나타낸 바와 같이, 본 발명제품인 저분자 폴리만유로네이트에 의한 GOT와 GPT의 변화는 대조군과 비교하여 GOT는 38%, GPT는 30%의 감소효과를 나타내었다.

## &lt;107&gt; 【표 14】

혈청 중의 GOT·GPT 저하효과

실험군	GOT (카르멘, Karmen)	GPT (카르멘)
기초식이군	23.6 $\pm$ 1.7	18.5 $\pm$ 1.4
대조군*1	45.2 $\pm$ 2.3	23.4 $\pm$ 2.5
폴리만유로네이트군*2	27.8 $\pm$ 2.1	16.3 $\pm$ 1.5
폴리만유로네이트+폴리글루로네이트군*3	31.9 $\pm$ 1.8	18.5 $\pm$ 1.8
폴리글루로네이트군*4	33.4 $\pm$ 2.0	18.8 $\pm$ 1.9

&lt;108&gt; \*1, \*2, \*3, \*4; [표 8] 참조

## &lt;109&gt; 7. 급성독성시험

- <110> 4주령의 수컷 ICR계 마우스 80마리를 사용하여 저분자 폴리만유로네이트를 2g/kg으로 경구투여하였다. 투여후 6시간은 매시간 관찰하였고, 2주간 일반상태 및 운동성, 체중추이, 외관 및 자율신경증상을 주의깊게 관찰을 행하였다.
- <111> 경구투여후 2주간 매일 관찰한 결과 운동활동의 변화, 체중추이의 변화, 경련 및 반사활동의 이상 등이 관찰되지 않았다.
- <112> 즉, 급성독성시험 결과 LD50은 2000 mg/kg 이상이였다.

<113> [실시예 4] 폴리만유로네이트의 중금속 흡착능 실험

- <114> 정제한 해조류 알긴산, 본 발명에 따라 분리 정제된 폴리만유로네이트 및 폴리글루로네이트를 증류수에 용해시키고, 농도를 400  $\mu\text{g/ml}$ 로 조정하였다. 금속염을 증류수에 용해시켜, 0, 50 또는 100 mM 농도로 준비하였다. 해조류 알긴산, 폴리만유로네이트 및 폴리글루로네이트 용액 각각을 각각의 금속 양이온 용액과 4:1의 부피비로 혼합하였다. 이 혼합물을 실온에서 2시간 동안 배양시키고 원심분리(1,800  $\times g$ 에서 20분)하였다. 각 상청액내의 중합체의 농도를 페놀-황산법[Dubois et al., 1956. *Anal. Chem.*, 28, 350-356]으로 측정하였다. 침전된 중합체의 농도를 계산하고 이를 이용하여 각 중금속 양이온에 대한 중합체의 상대적 친화도를 계산하는데 사용하였다. 그 결과를 표15에 나타낸다.

## &lt;115&gt; 【표 15】

중금속 이온에 의한 중합체의 침전

중금속이온	농도(nM)*1		
	폴리만유로네이트	폴리글루로네이트	알긴산
칼슘	8.0	8.5	17.6
카드뮴	3.5	3.6	3.6
코발트	20.2	9.9	11.5
구리	3.5	4.6	3.2
철	2.7	3.4	2.7
수은	18.0	77.7	100<
마그네슘	100<	100<	100<
망간	37.2	90.2	63.5
루비듐	15.5	16.9	24.1
스트론튬	15.6	16.6	23.1
아연	15.2	18.3	14.5
납	5.2	5.5	5.3

<116> \*1. 400 $\mu$ g/ml(w/v)의 각 중합체 용액(폴리만유로네이트 용액, 폴리글루로네이트 용액 및 알긴산 용액)으로부터 50%의 중합체를 침전시키는데 필요한 금속이온의 농도.

<117> 폴리만유로네이트와 중금속간의 결합능을 살펴보면, 철, 구리, 카드뮴, 납 및 칼슘 등과는 결합능이 뛰어났으며, 그외 아연, 스트론튬, 루비듐, 수은, 코발트 등과도 좋은 결합능을 보였다. 그러나 마그네슘과는 결합능이 약하였다.

<118> 폴리글루로네이트는 전체적으로 폴리만유로네이트와 비슷한 경향을 나타내었으나 망간과 수은에 있어서는 폴리만유로네이트에 비해 낮은 결합능을 보였다.

<119> 한편, 알긴산에서는 전체적으로 폴리만유로네이트와 폴리글루로네이트에 비해 금속과의 결합능이 낮은 경향을 나타내었다.

**【발명의 효과】**

<120> 본 발명의 저분자 폴리만유로네이트 제조방법에서는 고분자 알긴산을 가수분해하는 단계에서 유기산을 사용함에 의해, 종래 염산이나 황산 등의 무기산을 이용하던 방법에 비하여 기기부식 등의 문제가 없으며, 중화처리 및 후처리가 필요없어지는 장점이 있으며, 기타 효소 및 고온 고압하의 가수분해법에 비하여도 가수분해 시간이 현저히 단축되고, 비용이 절감되는 효과가 있다.

<121> 본 발명의 방법에 따르면 순도가 90%이상인 일정한 수준의 단계적으로 저분자화한 폴리만유로네이트를 얻을 수 있는 장점이 있다.

<122> 본 발명의 방법으로 얻어진 저분자 폴리만유로네이트는 천연 알긴산의 유효성분으로서, 고분자 알긴산이 갖는 콜레스테롤 저해 효과 및 기타 유용한 효과는 증진시키면서 해조류 특유의 이미·이취가 나지 않고 용해도가 높은 고순도의 단일 물질로서, 이를 식품 첨가제 또는 보조제로서 사용할 경우 소량으로 사용하여도 우수한 콜레스테롤 저하등의 목적하는 효과를 거둘 수 있고, 식품내 목적하는 기능조절을 위한 함량조절이 가능하다는 장점이 있다.

【특허청구범위】

【청구항 1】

(1) 고분자 알긴산에 유기산을 첨가하고 가열하는 단계,

(2) pH 를 2.5 내지 3.5로 조절하는 단계, 및

(3) 폴리만유로네이트를 회수하는 단계

를 포함하는, 고분자 알긴산으로부터 저분자 폴리만유로네이트를 제조하는 방법.

【청구항 2】

제1항에 있어서, 고분자 알긴산을 해조류에서 얻는 방법

【청구항 3】

제1항에 있어서, 유기산이 구연산, 사과산, 수산, 젖산, 호박산, 주석산 및 초산으로 이루어진 군에서 선택되는 것인 방법.

【청구항 4】

제1항에 있어서, 상기 pH가 2.8 내지 3.0인 방법.

【청구항 5】

저분자 폴리만유로네이트를 0.01~100 중량% 함유하는 것을 특징으로 하는 비만 억제제, 혈청지질개선, 간기능향상 및 중금속의 체외 배출 기능을 하는 조성물.

【청구항 6】

저분자 폴리만유로네이트를 0.01~100 중량% 함유하는 것을 특징으로 하는 혈청지질개선, 및 고지혈증, 비만 및 당뇨병을 예방하는 기능성식품.

【청구항 7】

제6항에 있어서, 기능성 식품이 다이어트 음료인 식품.

【청구항 8】

제6항에 있어서, 기능성 식품이 식빵 또는 라면인 식품.

【청구항 9】

저분자 폴리만유로네이트를 0.01~100 중량% 함유하는 것을 특징으로 하는 비만, 당뇨병, 및 고혈압, 동맥경화, 협심증, 심근경색 및 혈전증과 같은 심혈관계 질환의 치료 및 예방을 위한 건강보조식품.